

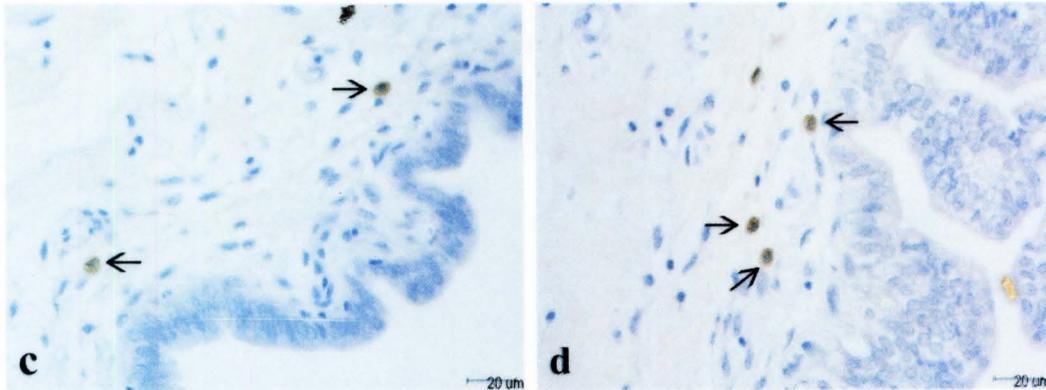


รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัยเรื่อง

ผลของการใช้วัคซีนพรีอาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในฟาร์มสุกรต่อสมรรถภาพ
ทางการสืบพันธุ์ของสุกรสาวทดแทนและแม่สุกรอุ้มท้อง
(ปีที่ ๑)

สัญญาเลขที่ GRB_APS_๑๖_๕๔_๓๑_๐๑



โดย

รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กุมภาพันธ์ ๒๕๕๕



กิตติกรรมประกาศ
(Acknowledgement)

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๔ (ตุลาคม ๒๕๕๓- กันยายน ๒๕๕๔)

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณท่านเจ้าของฟาร์ม และบุคลากรในฟาร์มทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ เอื้อเฟื้อ ข้อมูล และอำนวยความสะดวกในการทำงานในฟาร์ม

ขอบคุณ ผศ.น.สพ.ดร. คมกฤษ เทียนคำ หัวหน้าหน่วยพยาธิวิทยา และ ศ.น.สพ.ดร. รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช หัวหน้าภาควิชาพยาธิวิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ตลอดจนอุปกรณ์ในการเก็บรักษาและย้อมสีชิ้นเนื้อ ขอขอบคุณ คุณสุประดิษฐ์ หวังในธรรม ที่อำนวยความสะดวกในการใช้วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง และให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิคในการเก็บชิ้นเนื้อ และการตรวจชั้นสูตรทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ขอบคุณ รศ.น.สพ.ดร. อลงกรณ์ อมรศิลป์ หัวหน้าภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการตรวจหาเชื้อพาร์อาร์เอส ด้วยวิธี real time PCR และ ขอขอบคุณ ดร. ปิยะ วงศ์ยานิน ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิคทางด้าน real time PCR

ขอบคุณ น.สพ. รชฎ ตันติเลิศเจริญ หน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลในการชั้นสูตรโรคพาร์อาร์เอส และให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือวัสดุอุปกรณ์ ตลอดจนการฝึกเทคนิคเบื้องต้นในการตรวจชั้นสูตรโรคพาร์อาร์เอสด้วยวิธี PCR



การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการสำรวจความชุกทางซีรัมของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอส (PRRSV) ในสุกรสาวทดแทนจากฟาร์มสุกรในประเทศไทยที่ถูกคัดเลือกจำนวน 5 ฟาร์ม การศึกษาประกอบด้วย 3 ส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาย้อนหลังเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลด้านความชุกทางซีรัมของเชื้อ PRRSV ในสุกรสาว แม่สุกร พ่อสุกร สุกรอนุบาล และสุกรขุนจำนวน 7,030 ตัวอย่าง ส่วนที่สองเป็นการศึกษาความชุกทางซีรัมของเชื้อ PRRSV ณ ช่วงเวลาหนึ่งในสุกรสาว จำนวน 200 ตัว ส่วนสุดท้ายเป็นการศึกษาความชุกทางซีรัมของเชื้อ PRRSV ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งจากปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ จำนวน 166 ตัว จากฟาร์มทั้งหมดพบว่ามี ความชุกทางซีรัมของเชื้อ PRRSV เป็น 79.3% จากการศึกษา ณ ช่วงเวลาหนึ่งพบว่า 87.5% ของสุกรสาวทดแทนมีการติดเชื้อ PRRSV ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์มีความชุกทางซีรัมของเชื้อ PRRSV เป็น 73.5% การศึกษานี้สรุปได้ว่าสุกรสาวทดแทนส่วนใหญ่จะมีการสัมผัสเชื้อ PRRSV ก่อนจะถูกผสมพันธุ์ นอกจากนี้งานวิจัยยังได้ศึกษาความชุกของการตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากมีปัญหาระบบสืบพันธุ์ และศึกษาความสัมพันธ์กับอายุของสุกรเมื่อถูกคัดทิ้ง สาเหตุการคัดทิ้ง ฟาร์ม และการทำวัคซีนพ็อร์อาร์เอส โดยรวบรวมชิ้นเนื้อมดลูกจากสุกรสาวจำนวน 100 ตัว จากฟาร์มสุกรในประเทศไทย จำนวน 6 ฟาร์ม ทำการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสในชิ้นเนื้อโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีโดยใช้เทคนิค Polymer-based non-avidin-biotin ผลการศึกษาพบว่า แอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสถูกตรวจพบในโซโตพลาสซึมของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจที่อยู่ในชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อยู่ใต้ชั้นผิวเยื่อของมดลูก โดยพบได้ 33% ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสแตกต่างกันในแต่ละฟาร์ม โดยพบตั้งแต่ 14.3% ถึง 80.0% ($P=0.018$) การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกที่อายุต่างๆ กันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตรวจพบ 29.6% 39.4% และ 40.9% ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งที่อายุ 6-8 9-10 และ 11-16 เดือน ตามลำดับ $P=0.698$) เช่นเดียวกับกับสาเหตุการคัดทิ้ง ($P=0.929$) แอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสถูกพบใน 24.5% ของสุกรสาวที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นพ็อร์อาร์เอสสเตรนยุโรป และ 23.1% ของสุกรสาวที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นพ็อร์อาร์เอสสเตรนอเมริกา ($P=0.941$) ปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสไม่มีผลต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูก และการตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสไม่มีความแตกต่างกันในสุกรสาวที่ไม่เคยถูกผสมพันธุ์ (35.4%) และสุกรสาวที่ได้รับการผสมพันธุ์ก่อนถูกคัดทิ้ง (30.8%) ($P=0.622$) โดยสรุป เชื้อไวรัสพ็อร์อาร์เอสสามารถคงอยู่ในเนื้อเยื่อมดลูกของสุกรสาวที่ได้รับเชื้อเป็นเวลาหลายเดือนแม้ว่าสุกรสาวนั้นจะได้รับการวัคซีนหรือการคลุกโรคแล้วก็ตาม

คำสำคัญ: สุกร ระบบสืบพันธุ์ โรคพ็อร์อาร์เอส การแท้ง การทำวัคซีน

The present study investigated the seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in replacement gilts from selected five swine herds in Thailand. The study consisted of three parts. First, a retrospective data analysis on the seroprevalence of PRRSV in gilts, sows, boars, nursery and fattening pigs in five herds (n=7,030). Second, a cross-sectional study on seroprevalence of PRRSV (n=200) in replacement gilts. Last, the seroprevalence of PRRSV in gilts culled due to reproductive failure (n=166). Across the herds, the seroprevalence of PRRSV was 79.3%. The cross-sectional study revealed that 87.5% of the replacement gilts were infected with PRRSV. In the gilts culled due to reproductive failure, the seroprevalence of PRRSV was 73.5%. It could be concluded that most of the replacement gilts were exposed to PRRSV before entering the breeding house. In addition, the study was also determine the prevalence of PRRSV antigen positive uterine tissue in gilts culled due to reproductive disturbance in relation to age at culling, reasons for culling, herds and PRRSV vaccination. Uterine tissues of 100 gilts from 6 swine herds in Thailand were collected. The immunohistochemistry was performed to detect the PRRSV antigen using a polymer-based non-avidin-biotin technique. PRRSV was detected in the cytoplasm of the macrophages in the sub-epithelial connective tissue layers of the endometrium in 33.0% of the culled gilts. The detection of PRRSV antigen varied among the herds from 14.3% to 80.0% ($P=0.018$). The detection of PRRSV in the uterine tissues at different ages was not statistically different (29.6%, 39.4% and 40.9% in gilts culled at 6-8, 9-10 and 11-16 months of age, respectively, $P=0.698$), similar to the reasons for culling ($P=0.929$). PRRSV antigen was found in 24.5% of the gilts vaccinated against the EU-strain-modified-live PRRSV vaccine and in 23.1% of the gilts vaccinated against the US-strain-modified-live PRRSV ($P=0.941$). The level of antibodies titers against PRRSV had no impact on PRRSV antigen detection in the uterine tissues. Similarly, the detection of PRRSV antigen did not differ between the virgin gilts (35.4%) and the gilts mated before culling (30.8%) ($P=0.622$). It can be concluded that PRRSV remain in the uterine tissue of the infected gilts for several months even though vaccinations and acclimatization have been carried out.

Keywords: Pig, Reproduction, PRRS, Abortion, Vaccination

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

| เรื่อง | หน้า |
|--|-----------|
| บทนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย | 2 |
| ขอบเขตของโครงการวิจัย | 2 |
| ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย | 2 |
| การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง | 3 |
| โรคติดเชื้อไวรัสในสุกร | 4 |
| การติดเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสในแม่สุกรอุ้มท้อง | 5 |
| การทำวัคซีนพาร์อาร์เอสเชื้อเป็นในสุกรสาวอุ้มท้อง | 6 |
| สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ในฟาร์มสุกรที่ทำวัคซีนพาร์อาร์เอสเชื้อเป็น | 8 |
| การตรวจพบเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกร | 10 |
| การกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส | 11 |
| วิธีดำเนินการวิจัย | 16 |
| สถานที่ทำวิจัยและฟาร์มสุกร | 16 |
| การจัดการฟาร์ม | 16 |
| การเก็บตัวอย่างเลือด | 16 |
| การตรวจทางซีรัมวิทยา | 17 |
| การตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส | 18 |
| การตรวจเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี | 18 |
| การตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีน- พาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น | 19 |
| การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ผล | 19 |
| การวิเคราะห์ทางสถิติ | 19 |
| ผลการวิจัย | 21 |
| สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ | 21 |
| ความชุกของเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสและพิษสุนัขบ้าเทียมในฟาร์มสุกร | 21 |
| ความชุกของเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัส- ในสุกรสาวทดแทน | 21 |
| ความชุกของเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส พิษสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัส- ในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง | 22 |
| ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพาร์อาร์เอส- ชนิดเชื้อเป็น | 24 |

| เรื่อง | หน้า |
|---|-----------|
| ผลผลิตและสาเหตุการคัดทิ้ง | 24 |
| การตรวจพบเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส | 25 |
| ผลของอายุเมื่อถูกคัดทิ้ง สาเหตุการคัดทิ้ง และการผสมต่อการตรวจพบ- เชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส | 25 |
| ผลของระดับแอนติบอดีต่อการตรวจพบเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส | 26 |
| บทสรุปและวิจารณ์ | 28 |
| ความชุกของโรคพาร์อาร์เอส พืชสุนัขบ้าเทียม และพาร์โวไวรัสในสุกร | 28 |
| การตรวจพบแอนติเจนของเชื้อไวรัสพาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูก- ของสุกรสาว | 30 |
| ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีนพาร์อาร์เอส- ชนิดเชื้อเป็น | 31 |
| สรุป | 32 |
| เอกสารอ้างอิง | 33 |
| ภาคผนวก | 38 |
| ผลงานตีพิมพ์ | 38 |

สารบัญตาราง (List of Tables)

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|---|------|
| 1 | ผลการสังเกตสุขภาพแม่สุกรหลังคลอด และสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ ในแม่สุกรที่ฉีดและไม่ฉีดวัคซีนพิอาร์อาร์เอสเชื้อเป็น | 9 |
| 2 | อุบัติการณ์ของโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ที่ตรวจพบในสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้ง เนื่องจากความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ในประเทศไทย | 12 |
| 3 | เปอร์เซ็นต์สุกรที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียม และเชื้อไวรัสพิอาร์อาร์เอส ในกลุ่มสุกรที่ต่างกันในฟาร์มสุกรอุตสาหกรรมในประเทศไทยระหว่างปี 2547-2550 | 22 |
| 4 | อายุเมื่อถูกคัดทิ้ง (วัน) น้ำหนักตัวเมื่อคัดทิ้ง (กิโลกรัม) อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน จากแรกเกิดถึงถูกคัดทิ้ง (ADG; กรัมต่อวัน) อายุเมื่อผสมครั้งแรก (วัน) และ จำนวนไขที่ตกในสุกรสาวตามสาเหตุการถูกคัดทิ้ง | 23 |
| 5 | จำนวนและเปอร์เซ็นต์ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งและเป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสเอตี และเชื้อพาร์โวไวรัส | 23 |
| 6 | จำนวนและเปอร์เซ็นต์ของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งที่เป็นบวกต่อเชื้อไวรัสพิอาร์อาร์เอส เชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าเทียมส่วน g1 และเชื้อพาร์โวไวรัส (n=159) | 24 |
| 7 | อัตราส่วน S/P (ค่าเฉลี่ย±ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานเฉลี่ย) เปอร์เซ็นต์ของซีรัม ที่ให้ผลบวกในสุกรสาวและสุกรนาแม่และการพบไวรัสพิอาร์อาร์เอสหลังการฉีดวัคซีน | 24 |
| 8 | ข้อมูลผลผลิตของสุกรสาวทดแทนที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ | 25 |
| 9 | จำนวนและเปอร์เซ็นต์ของสุกรสาวที่สัมพันธ์กับการพบแอนติเจนของเชื้อไวรัส พิอาร์อาร์เอสในเนื้อเยื่อมดลูกโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีและระดับแอนติบอดีต่อ เชื้อไวรัสพิอาร์อาร์เอสตามสาเหตุการคัดทิ้ง | 26 |
| 10 | ข้อมูลการผลิตของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ที่สัมพันธ์กับ เปอร์เซ็นต์สุกรสาวที่เป็นบวกต่อการตรวจทาง ELISA และผลการตรวจทาง อิมมูโนฮิสโตเคมี | 27 |

สารบัญภาพ (List of Illustration)

| รูปที่ | | หน้า |
|--------|---|------|
| 1 | อัตราการตาย (mortality rate) และอัตราการคัดทิ้ง (culling rate) เฉลี่ยต่อปีของแม่สุกรในฟาร์มสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส ระหว่าง ปี ค.ศ. 2007-2009 จากการสำรวจในฟาร์มสุกรจำนวน 7 ฟาร์ม ในประเทศไทย ฟาร์ม A B และ C ทำวัคซีนเชื้อเป็น และฟาร์มที่เหลือไม่เคยทำวัคซีนเชื้อเป็นต่อโรคพอร์อาร์เอส | 13 |
| 2 | การแสดงออกของแอนติเจนต่อเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอสในเยื่อโพรงมดลูกของสุกรสาวที่ถูกคัดทิ้งเนื่องจากปัญหาทางการสืบพันธุ์ (a) กลุ่มควบคุมบวก (เนื้อเยื่อปอด) (b) กลุ่มควบคุมลบ (c-d) เยื่อโพรงมดลูกสุกรสาวที่แสดงการปรากฏของเชื้อไวรัสพอร์อาร์เอส ลูกศรสีดำแสดงเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส | 26 |

สัญลักษณ์และคำย่อ
(List of Abbreviations)

- ADG = Average daily gain (อัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อวัน)
- ADV = Aujeszky's disease virus (เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียม)
- AFM = Age at first mating (อายุที่สุกรคลอดครั้งแรก)
- CSFV = Classical swine fever virus (เชื้อไวรัสสอหิวาต์สุกร)
- EU strain = สายพันธุ์ยุโรป
- FMDV = Foot and mouth disease virus (เชื้อไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย)
- HI = Haemagglutination inhibition
- NPD = Non-productive days (วันสูญเสีย)
- NSP = non-structural protein
- ORF = open reading frame
- PBS = Phosphate buffered solution
- PCV-2 = Porcine circo virus type 2 (เชื้อไวรัสเซอร์โคไวรัสชนิดที่ 2 ในสุกร)
- PPV = Porcine parvo virus (โรคพาร์โวไวรัสในสุกร)
- PRRS = Porcine reproductive and respiratory syndrome (โรคพาร์อาร์เอส)
- PRRSV = Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (เชื้อไวรัสพาร์อาร์เอส)
- RT-PCR = Reverse transcriptase-polymerase chain reaction
- SAS = Statistical analysis system
- US strain = สายพันธุ์อเมริกา
- WSI = Weaning-to-fist-service interval (ระยะหย่านมถึงผสม)